

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-167791

⑬ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)7月24日

C 07 H 15/26
// A 61 K 31/70

ACB

6971-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑮ 発明の名称 血小板凝集抑制剤

⑯ 特 願 昭61-8126

⑰ 出 願 昭61(1986)1月20日

⑱ 発 明 者 松 倉 紀 男 東京都北区王子5丁目21番1号 十條製紙株式会社中央研究所内

⑲ 発 明 者 大 島 喜 八 郎 東京都北区王子5丁目21番1号 十條製紙株式会社中央研究所内

⑲ 発 明 者 秦 邦 男 東京都北区王子5丁目21番1号 十條製紙株式会社中央研究所内

⑲ 発 明 者 久 保 山 盛 雄 東京都世田谷区代沢1-19-11

⑳ 出 願 人 森永乳業株式会社 東京都港区芝5丁目33番1号

㉑ 出 願 人 十條製紙株式会社 東京都北区王子1丁目4番1号

㉒ 代 理 人 弁理士 津 田 昭

最終頁に続く

明 細 書

1 発明の名称 血小板凝集抑制剤

2 特許請求の範囲

(1) シリンガレジノール ジグルコシドを有効成分とすることを特徴とする血小板凝集抑制剤。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

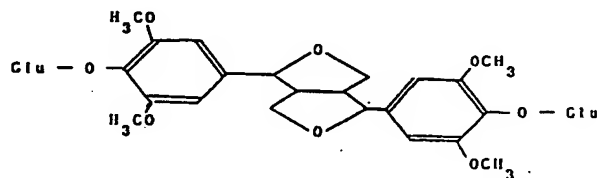
本発明は血小板凝集抑制剤に関し、詳しくは癌性がなく、ADPまたはコラーゲン等によって惹起される血液の血小板の凝集を抑制しうる血小板凝集抑制剤に関する。

本発明の血小板凝集抑制剤は、血小板の凝集に起因する疾患、特に脳卒中および心筋梗塞等の血小板の凝集の関与する血栓症の予防および治療ならびにガン転移の予防に使用することができる。

(技術的背景および従来技術の説明)

シリンガレジノール ジグルコシド

(*Springaresinol diglucoside*) はエゾウコギまたはユリノキなどの多くの植物に含まれる配糖体であって、次の化学式を有する化合物である。



シリンガレジノール ジグルコシドは白色結晶(融点: 265 ~ 267 °C)として単離されており、親水性の物質である。(ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリ (J. Org. Chem.) 第45巻 第1327 ~ 1329 頁)

シリンガレジノール ジグルコシドは、次の生理活性を有することが知られている。

A 抗疲労作用

シリンガレジノール ジグルコシドを経口投与したマウスは、これを投与しないマウスに比べて労働能力を向上する。(ロイディア (Lloydia) 第32巻 第1号 第46 ~ 51 頁 (1969年))

B サイクリック AMP リン酸ジエステラーゼ活性の阻害

シリンガレジノール ジグルコシドは、サイク

リック AMP リン酸ジエステラーゼの活性を中程度阻害する。(ケミカル・ファーマシューチカル・ブレン (Chem. Pharm. Bull.) 第 29 巻 第 12 号 第 3586 ~ 3592 頁 (1981 年))

C 心因性機能障害の回復

シリンガレジノール ジグルコシドは、心因性行動障害および心因性記憶能力障害等の心因性機能障害に対する回復作用を有する。

(特開昭 59 - 116220 号公報)

一方において、血栓症による動脈硬化の促進または冠動脈障害の誘発が主原因となる脳卒中や心筋梗塞は、近年漸増する傾向にある。止血機構に関与する血小板の近年の研究によると、血小板は血栓形成において中心的役割を果たすことが明らかになり、血栓形成における血小板の重要な役割に注目し、血小板の粘着、放出および凝集の一連のメカニズムを制御する薬剤を血栓症の予防および治療に利用することが試みられている。

これまでに血小板の凝集を抑制する作用を有する物質として、アスピリン (アセチルサリチル酸)

して使用することができ、またガン転移の予防剤として使用することができる。

〔発明の具体的な説明〕

本発明の血小板凝集抑制剤の有効成分は、シリンガレジノール ジグルコシド

(*Syringaresinol diglucoside*) である。

シリンガレジノール ジグルコシドは、これを含む植物体をアルコール、たとえばメタノールまたはエタノールで抽出し、抽出物を精製することによって得られるが、血小板凝集抑制剤として使用するには、これを服用する人体の安全を損なわない限りにおいて、精製度の低い粗製品であっても、これを使用することができる。

血小板は、ADP またはコラーゲンなどの血小板の凝集誘起物質の存在により凝集するが、この時シリンガレジノール ジグルコシドが存在すると、血小板の凝集が抑制され、この血液中の血小板の凝集の抑制によって、脳卒中または心筋梗塞を予防し、または治療することができる。

本発明の血小板凝集抑制剤の力価は、実験例 1

およびインドメサシンなど数種の物質が知られているが、薬剤の有効性および安全性の確保の点から、より優れた薬剤の開発が望まれている。

本発明者らは、血小板の凝集の抑制に関する研究において、シリンガレジノール ジグルコシドは強力な血小板の凝集抑制作用を有するが、その毒性は非常に小さいことを見出し、これらの知見にもとづいて本発明に到達した。

〔発明の目的および発明の要約〕

本発明の目的は、血小板の凝集抑制作用の優れた薬剤を提供することであり、詳しくは、血小板の凝集抑制作用が優れ、毒性が極めて小さい薬剤を提供することにある。

本発明は、シリンガレジノール ジグルコシドを有効成分とすることを特徴とする血小板凝集抑制剤である。

本発明のシリンガレジノール ジグルコシドを有効成分とする血小板凝集抑制剤は、脳卒中または血栓症などの血小板の凝集に起因し、または血小板の凝集の関与する疾患の予防および治療剤と

の (3) の実験方法によって求めることができる。シリンガレジノール ジグルコシドの服用量は、年齢、病状および体重等によって異なるが、通常成人 1 日当り 5 ~ 5000 mg 程度が適当であり、1 ~ 3 回程度に分けて服用するのが好ましい。

シリンガレジノール ジグルコシドを投与する場合、その投与方法は、いかなる方法であっても、これによることができる。投与の形態は、シリンガレジノール ジグルコシドの経口投与が好ましいが、シリンガレジノール ジグルコシドを水に溶解し、その水溶液の静脈注射によることができる。

シリンガレジノール ジグルコシドは、錠剤担体または賦形剤と混和し、錠剤、散剤、カプセル剤または顆粒剤の形において、服用することができる。

以下において、実施例または実験例の記述によって、本発明をさらに詳しく説明する。

実験例 1

(ウサギ多血小板血漿における血小板の凝集抑制

作用)

(1) 実験の試料

(1-1) 多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma) (PRP)

家兔 (体重: 3 ~ 4 Kg) の総動脈より、9 容の血液を、1 容の 3.8 % クエン酸ナトリウムを入れたシリコン処理フラスコに採血した。この血液を、2000 rpm において 4 分間遠心分離し、上清の多血小板血漿を得た。

(1-2) 乏血小板血漿 (Platelet Poor Plasma) (PPP)

多血小板血漿を除去した沈澱物を、さらに 3000 rpm において 10 分間遠心分離し、上清の乏血小板血漿を得た。

(2) 実験に使用した凝集惹起物質

(2-1) アデノシン二リン酸 (ADP)

実験において、1 μ M の終末濃度で使用した。

(2-2) コラーゲン

実験において、2 μ g/ml の終末濃度で使用した。

て、凝集抑制率 (%) を求めた。

(4) 実験の結果

実験における検体の濃度および実験の結果は第 1 表に示すとおりであった。

第 1 表 ADP およびコラーゲンにより惹起される血小板の凝集の抑制

化合物名	重量濃度 (μ g/ml)	モル濃度 (μ M)	血小板の凝集抑制率 (%)	
			ADP により惹起された凝集	コラーゲンにより惹起された凝集
シリガラレジノール シグルコシド (検体)	5	7	—	29
	10	13	—	68
	25	34	—	71
	50	67	13	74
	100	134	55	77
アスピリン (対照)	50	278	61	64

(5) 考 察

第 1 表によると、本発明のシリガラレジノール

(3) 実験方法

実験の試料の多血小板血漿 (PRP) 0.4 ml をシリコン処理キュベットに取り、これに第 1 表に示す濃度の検体を含む乏血小板血漿 (PPP) 0.1 ml を添加し、これを専用マグネチックスターラーで 1000 rpm において攪拌しながら、2 分間加温した。

この血小板混合液の透光度 (C) をアグレゴメーター (Aggregometer) (クロノログ

(CHRONO-LOG) 社製) によって測定した。

その後、ADP (クロノログ (CHRONO-LOG) 社製) を終末濃度 1 μ M において加え、5 分間攪拌した後、この液の透光度 (D) をアグレゴメーターにより測定した。

凝集抑制率 (%) を次式によって求めた。

$$\text{凝集抑制率 (\%)} = \frac{C - D}{C} \times 100$$

凝集惹起物質の ADP の代わりにコラーゲン (ホルモンヘミー (HORMON-CHÉMIE) 社製) を終末濃度 2 μ g/ml において使用し、前記と同様にし

シグルコシドは、対照のアスピリンに比べると、ADP により惹起される凝集では、約 1/20 のモル濃度においてはほぼ同等の血小板の凝集抑制効果を示し、コラーゲンにより惹起される凝集では、約 1/20 のモル濃度においてはほぼ同等の血小板の凝集抑制効果を示すことがわかる。

このことは、シリガラレジノール シグルコシドが顕著な血小板の凝集抑制作用を有することを示す。

(6) 補 足

実験の試料の家兔の血液の代わりに、ヒトの血液を使用し、同様の実験を行ない、シリガラレジノール シグルコシドはヒトの血液についても、同様の血小板の凝集抑制作用を有することがわかった。

実験例 2

(急性毒性試験)

7 週令の雄性 dd 系マウス (体重: 30 ~ 35 g) を使用し、レーベンス・ケルパー法に準じて、その一群 4 匹に、シリガラレジノール シグルコシ

ドの0.3% CMC 懸濁液を経口投与したが、シリングアレシノール ジグルコシドは、1g/Kgの投与量においても、死亡例がなかった。

このことから、シリングアレシノール ジグルコシドは低毒性であることがわかる。

実験例 1

- (1) エソウコギ (*Eleutherococcus senticosus*) からシリングアレシノール ジグルコシドの抽出

エソウコギのアルコール抽出エキス (33% エタノール溶液) 500 ml を減圧濃縮して、エタノールを留去し、その残液に水を加えて、全量を 500 ml にした。この水溶液をエーテル 300 ml により 2 回抽出し、抽出エキス中の脂溶性成分を除き去した。

脱脂後の水溶液をアンバーライト XAD-2 を充填したカラム (2.5 cm (φ) × 68 cm) に通導し、カラムの樹脂を水 1.4 l で洗浄した。次にこのカラムの樹脂に 25% メタノール水溶液 600 ml を通導し、溶液部を減圧濃縮した。ここに得られた液

実験例 2

- (2) ユリノキ (*Liriodendron Tulipifera*) からシリングアレシノール ジグルコシドの抽出

新鮮なユリノキの生樹皮 30 Kg を細切して 5 cm 以下の細片とし、これをメタノール 90 l に浸漬し、室温において 3 日間放置、抽出した。抽出液を濾別し、残渣を 70% メタノール水溶液 60 l に浸漬し、室温において 3 日間放置、抽出した。再び抽出液を濾別し、これを先に得たメタノール抽出液と合し、混合抽出液を減圧濃縮して、メタノールを留去し、濃縮液 5 l を得た。この濃縮液 5 l に、1.5 l の n-ブタノールを加え、振とうした後、静置し、n-ブタノール層を分離、除去した。この操作を 3 回繰り返した後、残った水溶液部を減圧下に濃縮して、3 l の濃縮液を得た。この濃縮液に 7 l の水を加え、この混合液をアンバーライト XAD-2 を充填したカラムに通導し、5 l / 1 時間の速度においてカラムを通させた後、カラムを 20 l の水で洗浄し、さらに 30 l の

液を、さらにセファデックス LH-20 を充填したカラム (2.5 cm (φ) × 55 cm) に通導した後、このカラムを 30% メタノール水溶液で溶出し、溶出したフラクションを分画し、目的化合物のシリングアレシノール ジグルコシド (融点: 265 ~ 267 °C) 110 mg を得た。

- (2) 血小板凝集抑制作用の試験

ここに得られたシリングアレシノール ジグルコシドを検体として使用し、実験例 1 と同様にして、ウサギの血液の血小板の凝集抑制効果を試験した。その結果によると、上記のシリングアレシノール ジグルコシドは、60 μg/ml の使用量において、ADP により惹起される血小板の凝集抑制率が 24% であり、コラーゲンにより惹起される血小板の凝集抑制率は 75% であって、シリングアレシノール ジグルコシドは顕著な血小板の凝集抑制作用を有することがわかった。

(以下余白)

25% メタノール水溶液で洗浄した。洗浄における展開速度は 10 l / 1 時間であった。次に、このカラムに 20 l の 50% メタノール水溶液を通導し、5 l / 1 時間の速度において展開した。これらの展開における溶出液を集め、減圧下に濃縮、乾固して、シリングアレシノール ジグルコシドの結晶を含む固形物 180 g を得た。

この固形物に水 180 ml を加え、混合した後、濾過して、シリングアレシノール ジグルコシドの結晶 8 g を得て、これを結晶 (イ) とした。次に水溶液部を減圧下に濃縮して、残渣を留去した後、濃縮液を、クロロホルム：メタノール：水が 80 : 20 : 5 の混合溶媒を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって処理し、シリカゲル薄層クロマトグラフィーによりモニターしながら、目的物質を含む溶出液部分を集め、これを減圧下に濃縮して、残渣を留去し、シリングアレシノール ジグルコシドの結晶 15 g を得、これを結晶 (ロ) とした。

これらの結晶 (イ) および結晶 (ロ) を併せて、

特開昭62-167791(5)

50 %エタノール水溶液から再結晶し、シリングレシノール ジグルコシドの無色の針状結晶 21 gを得た。この結晶の融点は 265 ~ 267 °C であった。

(2) 血小板凝集抑制作用の試験

ここに得られたシリングレシノール ジグルコシドの無色の針状結晶を検体として使用し、実験例 1 と同様にして、ウサギの血液の血小板の凝集抑制効果を試験した。

その結果によると、上記のシリングレシノール ジグルコシドは、100 μg / ml の使用量において、ADP により惹起される血小板の凝集抑制率が 55 % であり、コラーゲンにより惹起される血小板の凝集抑制率は 77 % であって、シリングレシノール ジグルコシドは顕著な血小板の凝集抑制作用を有することがわかった。

(発明の効果)

- ① ADP またはコラーゲン等によって惹起される血小板の凝集作用を抑制することができる。
- ② 血小板の凝集に起因する疾患、特に脳卒中、心

筋梗塞等の血小板の凝集の関与する血栓症の予防および治療剤として使用することができる。

③ ガンの転移に血小板の凝集が関与するので、ガン転移の予防剤として使用することができる。

④ 毒性が低い。

⑤ 血小板の凝集抑制作用が顕著である。

出願人 森永乳業株式会社

十條製紙株式会社

代理人 弁護士 池田 昭

第1頁の続き

⑦発明者 今井 二郎 東京都中野区中野 5-19-8
 ⑧発明者 藤原 優 東京都渋谷区神宮前 4-32-13